

Universität Zürich
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Vorsteher: Prof. Dr. med. dent. Christoph Hämmerle
Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Thomas Attin

Arbeit unter Leitung von Dr. med. dent. Florian Wegehaupt

**In-vitro-Untersuchung zum Einfluss der Konzentration einer Fluoridlösung
und der Vorbehandlung mit Alkohol auf die Reduktion der Säurelöslichkeit
von Zahnschmelz**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
Barbara Solt
von Zürich ZH

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. dent. Thomas Attin
Zürich 2010

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Anatomie und Histologie des Schmelzes	3
2.2 Schmelzerosionen	4
2.3 Prävention von Erosionen	8
2.4 Ziel der Studie	9
3 Versuchsplan	11
4 Material und Methode	13
4.1 Die Probenherstellung	13
4.2 Vorbehandlung der Proben	14
4.3 Behandlung mit Fluoridlösung	14
4.4 Erosion der Schmelzoberfläche und Bestimmung des gelösten Kalzium	16
4.4.1 Erosive Demineralisation und Probenverdünnung	16
4.4.2 Eichung des Atomabsorptionsspektrophotometers und Kalziumbestimmung	16
4.5 Bestimmung des KOH-löslichen Fluorids	17
4.6 Bestimmung des gebundenen Fluorids und des gelösten Apatits	18
4.6.1 Bestimmung des strukturell gebundenen Fluorids	18
4.6.2 Phosphor bzw. Apatitbestimmung	18
4.7 Fluoridmessung mit der ionenselektiven Fluoridelektrode	20
4.7.1 Theorie der ionenselektiven Fluoridelektrode	20
4.7.2 Eichung der Fluoridelektrode	21

4.7.2.1 Eichvorgang zur Messung von KOH-löslichem Fluorid	21
4.7.2.2 Eichvorgang zur Messung gebundenen Fluorids	22
4.7.3 Messvorgang und Fluoridberechnung	23
4.8 Statistische Analyse	24
5 Ergebnisse	25
5.1 Aufnahme des KOH-löslichen Fluorids	25
5.2 Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid	26
5.3 Erosive Demineralisation bzw. Resistenzfaktor	28
6 Diskussion	30
6.1 Material und Methode	30
6.2 Ergebnisse	32
6.3 Schlussfolgerung	34
7 Zusammenfassung	35
8 Literaturverzeichnis	37
9 Anhang	53
Danksagung	
Lebenslauf	

1 Einleitung

Über die letzten Jahre hat sich in den westlichen Ländern eine Abnahme der Kariesprävalenz abgezeichnet, was mehrheitlich auf den täglichen Gebrauch von Fluoriden zurückzuführen ist (Petersson & Bratthall, 1996). Beispielsweise hat in der Schweiz im Kanton Zürich der DMFT zwischen 1964 und 2000 bei den 12-Jährigen um 89.7% abgenommen (Marthaler et al., 2005). Im Vergleich dazu hat die Prävalenz der Erosionen in den letzten Jahren zugenommen (Bartlett et al., 1998; Nunn et al., 2003). Diese Zunahme wird vor allem durch den häufigeren Konsum von stark säurehaltigen Getränken verursacht. Insbesondere der Konsum von Softdrinks wie z.B. Coca Cola hat stark zugenommen (Cavaldini et al., 2000). Erosionen werden definiert als Auflösung der Zahnhartsubstanz durch die Einwirkung von Säuren in Abwesenheit von Mikroorganismen (Zipkin & McCure, 1949). Erosionen haben entweder eine intrinsische oder eine extrinsische Ätiologie (Zero, 1996). Bei intrinsischen Erosionen, ist der Magensaft mit seinem tiefen pH-Wert die Ursache für den Substanzabtrag (Hunt, 1951). Der stark saure Magensaft kommt durch Regurgitation von Mageninhalt bei Patienten, die an Anorexia nervosa, Bulimia nervosa und oesophagealem Reflux leiden, in Kontakt mit der Zahnhartsubstanz (Jarvinen et al., 1988; Roberts & Tyllenda, 1989). Die Entstehung von extrinsischen Erosionen geschieht durch die Zuführung von Säuren von aussen, z.B. durch Konsum säurehaltiger Getränke und Früchte (Larsen & Nyvad, 1999; Lussi et al., 2004; Hooper et al., 2007; West et al., 2000). Viele Studien haben untersucht, wie vor Erosionen unabhängig ihrer Ätiologie geschützt werden kann. Neben Reduktion der Säureexposition und des erosiven Potentials von Getränken, ist die Schutzwirkung durch Fluoride ein wichtiger Ansatz. Einige Studien haben gezeigt, dass die topische Applikation von Fluoriden das Erosionsrisiko senken kann (Davis & Winter, 1977; Wiegand & Attin, 2003). Da Fluoridlösungen jedoch nicht in unbegrenzten Konzentrationen verwendet werden können, stellt sich die Frage, wie die Aufnahme von Fluoriden optimiert werden kann. Daraus

entstand die Idee, den Schmelz vor der Fluoridbehandlung mit Alkohol zu dehydrieren, um die Aufnahme von Fluorid in den Schmelz zu verstärken. Ziel dieser Studie ist es daher, den Einfluss der Konzentration der Fluoridlösung und der Vorbehandlung des Schmelzes mit Alkohol auf die Aufnahme von Fluorid in den Schmelz, zu untersuchen.

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomie und Histologie des Schmelzes

Ausgereifter Schmelz ist die härteste und am stärksten mineralisierte Substanz des menschlichen Körpers. Der Schmelz besteht zu 93-98 Gewichts-% aus anorganischen Bestandteilen. Den Hauptanteil bilden hierbei Kalzium und Phosphor, welche im Verhältnis 1:1.2 als Apatitverbindung $(\text{Ca}_{10-x} \text{PO}_6)_x \cdot \text{X}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in Form von Kristallen vorliegen. Durch eine Substitutionsreaktion in den Kristallen, bei denen die Hydroxylgruppe durch Fluorid ausgetauscht wird, kommt es zur Ausbildung von Fluorapatit und fluoridierten Hydroxylapatit. Dadurch wird die Gitterstruktur stabiler als bei gewöhnlichem Hydroxylapatit. Die Apatitkristalle haben im Querschnitt eine hexagonale Form und sind durchschnittlich 160 nm lang, 40-70 nm breit und 26 nm dick (Nylen et al., 1963; Nikiforuk & Sognaes, 1966; Selvig & Halse, 1972; Arends & Jongebloed, 1978; Kerebel et al., 1979; Hellwig et al., 1999). Ungefähr 100 solcher Kristalle liegen zusammen und bilden sogenannte Schmelzprismen, welche von der Schmelz-Dentin-Grenze bis nahezu zur Schmelzoberfläche verlaufen. Im Zentrum der Schmelzprismen sind die Kristalle parallel zu deren Längsachse ausgerichtet, während sie in den äußeren Schichten zunehmend divergieren (Boyde, 1964). Die Schmelzprismen sind umgeben von einer interprismatischen Substanz, die ebenfalls aus Schmelzprismen besteht (Scott, 1953). Die Kristalle der interprismatischen Substanz sind jedoch nicht parallel ausgerichtet, sondern stehen zur Längsachse der Prismen in einem Winkel von 90° (Poole & Brooks, 1961; Carlström, 1964). An der Oberfläche des Schmelzes befindet sich eine prismenfreie Schicht, die eine Schichtdicke von 20-30 µm aufweist. Die darin enthaltenen Kristalle liegen eng aneinander und sind parallel zur Oberfläche ausgerichtet (Gwinnett 1966, 1967; Speirs, 1971). Außer Kalzium und Phosphor enthält der

Schmelz auch noch Karbonat, Magnesium, Natrium und weitere Spurenelemente (Losee et al., 1974). Dabei variiert der Anteil der Spurenelemente an verschiedenen Stellen des Schmelzes. Die Konzentration von Natrium, Magnesium und Kalium nimmt von der Schmelzoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze zu, wobei die Konzentration von Kalzium, Phosphor und Chlor abnimmt (Norén et al., 1983). Die höchste Fluoridkonzentration befindet sich in den oberflächlichsten 50 µm, welche zwischen 300 und 1200 ppm Fluorid enthält (Hallsworth et al., 1969). Der Fluoridgehalt wird jedoch beeinflusst vom Fluoridgehalt des Trinkwassers und der postoperativen Fluoridaufnahme aus der Nahrung und aus fluoridhaltigen Mundhygienemitteln (Schroeder, 1992).

Wasser macht mit 4 Gewichts-% den zweitgrößten Bestandteil des Schmelzes aus. Der größere Anteil liegt, gebunden an die Apatitkristalle, in der sogenannten Hydrationschale vor. Der restliche, kleinere Anteil ist an die organische Materie gebunden.

Der organische Bestandteil macht mit einem Gewichtsprozent den kleinsten Anteil aus und besteht im Wesentlichen aus Proteinen, Lipiden und wenig Kohlenhydraten (Stack, 1967).

2.2 Schmelzerosionen

Erosionen werden definiert als Zahnhartsubstanzverlust, der durch Einwirkung von Säuren oder Chelatoren verursacht wird und den Schmelz, das Dentin und den Zement betreffen kann. Der entstehende Zahnhartsubstanzverlust ist nicht assoziiert mit einem Einfluss von Mikroorganismen (Zipkin & McClure, 1949; Pindborg, 1970; Eccles, 1982). Kommt die Säure mit dem Zahn in Kontakt, muss sie zuerst das Pellikel durchdringen. Das Pellikel ist ein bakterienfreier, organischer Film. Er bedeckt alle oralen Hart- und Weichgewebe und besteht aus Muzinen, Glykoproteinen und Enzymen (Hannig et al., 2005). Je nach Alter und Dicke des Pellikels wirkt es als stärkere oder schwächere Diffusionsbarriere. Erst bei direktem

Kontakt mit der Zahnoberfläche kann die Säure den Schmelz angreifen und löst zunächst die Hydratationshülle der Prismen und später den Prismenkristall auf, indem Kalzium und Phosphat herausgelöst werden. Dadurch kommt es zum typischen Honigwabemuster an der Schmelzoberfläche (Meurman & Frank, 1991). Der kritische pH-Wert bei dem die Schmelzoberfläche angegriffen wird, liegt, abhängig vom Angebot an Mineralien in der Umgebung, zwischen 4 und 4.5. Dabei spielen zwei chemische Vorgänge eine bedeutende Rolle: wird eine Säure zugeführt, dissoziiert sie im wässrigen Milieu des Speichels. Dies führt dazu, dass das geladene Wasserstoffion der Säure den Schmelz direkt angreift, indem es sich mit den Karbonat- oder Phosphationen des Schmelzes verbindet. Zusätzlich komplexiert das zurückgebliebene, negativ geladene Anion der Säure, auch Chelator genannt, die positiv geladenen Kalziumionen und löst diese so aus dem Kristallgefüge heraus (Featherstone & Lussi, 2006). Dadurch hängt das erosive Potenzial einer Säure nicht nur von dessen pH-Wert ab, sondern auch davon, wie stark diese als Chelator wirkt. So erodiert z.B. auch Milchsäure bei einem pH-Wert zwischen 6 und 7 den Schmelz, weil das negativ geladene Laktat Kalziumionen komplexiert (Featherstone et al., 1979). Wenn eine Säure ein starker Chelator ist, wie z.B. Zitronensäure, wird nicht nur das Kalzium der Zahnoberfläche sondern auch das im Speichel enthaltene Kalzium komplexiert. Meurman und Ten Cate (1996) konnten in einer Studie zeigen, dass Zitrat, bei Konzentrationen wie sie in Fruchtsäften üblich sind, bis zu 32 % des im Speichel enthaltenen Kalziums, komplexiert. Dadurch dauert der Säureangriff länger an als die eigentliche Säurezuführung und der Remineralisationsprozess wird verlangsamt. Hält der Säureangriff an, erodiert die Säure nicht nur die Oberfläche, sondern diffundiert in die interprismatische Substanz und löst so den Schmelz bis in tiefere Schichten auf. Wiegand et al. (2007) konnten zeigen, dass der Schmelz auch bei einer kurzen Säureexposition (60s) bis in eine Tiefe von 423–533 nm demineralisiert wird. Die Demineralisation bis in tiefere Schichten führt zu einer pH-Wert-Anhebung an der

Schmelzoberfläche und zu einem Auflösungsstopp, falls keine Säure mehr zugeführt wird (Lussi & Hellwig, 2001).

Bei der Entstehung von Erosionen wird unterschieden zwischen exogenen und endogenen Säuren und Chelatoren (Järvinen et al., 1991, Ten Cate & Imfeld, 1996). Exogene Erosionen entstehen durch vermehrte Zufuhr von Säure von aussen. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass stark säurehaltige Lebensmittel, wie z.B. Zitrusfrüchte und säurehaltige Getränke extrinsische Erosionen verursachen (Eccles & Jenkins, 1974; Smith & Knight, 1984; Mistry & Grenby, 1993; Lussi & Jaeggi, 2002). Vor allem kohlenensäurehaltige Softdrinks, wie z.B. Coca Cola, spielen heutzutage eine immer bedeutendere Rolle. Cavaldini et al. (2000) haben gezeigt, dass der Konsum von Softdrinks in den USA in den letzten 20 Jahren um 300 Prozent zugenommen hat. Ebenso kann der Konsum von Fruchtsäften aufgrund des niedrigen pH-Wertes den Schmelz demineralisieren. Vor allem die darin enthaltene Zitronensäure hat ein stark erosives Potential (Aeschbacher, 1967; Hannig et al. 2005). Es ist zu beachten, dass nicht der pH-Wert alleine ausschlaggebend ist für das erosive Potenzial der säurehaltigen Getränke. Neben dem pH-Wert ist das erosive Potential auch abhängig von der Pufferkapazität, der Adhäsionskraft des Produkts an die Zahnoberfläche, den chelatbildenden Eigenschaften, sowie dem Gehalt an Kalzium, Phosphat und Fluorid (Edwards et al., 1999; Lussi & Jaeggi 2006).

Durch Zugabe von Kalzium und Phosphat zu säurehaltigen Getränken kann das erosive Potenzial reduziert werden (Larsen & Nyvad, 1999). Attin et al. (2005) haben gezeigt, dass eine effektive Reduktion der Erosivität erreicht werden kann durch Zufügen von 1.0 mmol/l Kalzium oder einer Kombination von 0.5 mmol/l Kalzium, 0.5 mmol/l Phosphat und 0.031 mmol/l Fluorid in einem erosiv wirksamen Getränk.

Weitere Gründe für extrinsische Erosionen können die vermehrte Einnahme von Vitamintabletten, wie z.B. Vitamin C und Medikamenten, die Ascorbinsäure enthalten, sein (Hellwig & Lussi, 2006; Graehn, 1991), vor allem wenn sie in Form von kaubaren Tabletten

und Brausetabletten eingenommen werden (Grace et al., 2004; Giunta, 1983). Selten sind Erosionen bedingt durch industrielle Säuredämpfe. Sie sind an den Labialflächen der Frontzähne lokalisiert bei Personen, die beruflich solchen Säuredämpfen ausgesetzt sind. (Lynch & Bell, 1947; Ten Bruggen Cate, 1968; Tuominen et al., 1991; Petersen & Gormsen, 1991; Arowojolu, 2001). Önologen stellen eine weitere Berufsgruppe dar, die zunehmend betroffen ist von Erosionen. Die häufige Frequenz der Säureangriffe und der pH-Wert des Weins, der zwischen 3.0 und 3.6 liegt, erhöhen das Risiko für Erosionen (Wiktorsson et al., 1997). Auch bei professionellen Schwimmern, die mehrere Stunden täglich in Schwimmbecken trainieren, können betroffen sein. Vor allem wenn das Wasser mit Chlor desinfiziert wird und dadurch einen niedrigen pH-Wert aufweist, ist die Prävalenz erhöht (Geurtsen 2000).

Intrinsische Erosionen entstehen durch vermehrten Kontakt von Magensäure mit der Schmelzoberfläche durch Regurgitation und Erbrechen. Im Vergleich zu säurehaltigen Getränken, ist die Wirkung von Magensäure stärker, da sie einen pH-Wert zwischen 1,5 und 1 aufweist und zudem noch eine höhere Titrierbarkeit besitzt (Thylstrup & Fejerkov, 1994; Bartlett & Coward, 2001). So treten bei Personen, die an gastrointestinalem Reflux leiden, vermehrt starke Erosionen auf (Bartlett et al., 1996). Sie sind zu Beginn an den Palatinalflächen oberer Schneidezähne zu finden. Bei fortschreitendem Prozess sind auch die Höckerspitzen der Oberkieferprämolaren und Molaren und deren Palatinalflächen betroffen (Jarvinen et al., 1988; Meurman et al., 1994). Ebenso bei psychisch bedingten Essstörungen, wie Anorexia nervosa und Bulimia nervosa treten Erosionen, verursacht durch vermehrtes Erbrechen auf (Hellström, 1977; Smith & Knight, 1982; Lussi et al., 1992). Das Verteilungsmuster ist ähnlich wie beim gastrointestinalen Reflux. Die ersten Läsionen zeigen sich an den Palatinalflächen der Oberkieferfrontzähne. Beim fortgeschrittenen Stadium sind auch okklusale und bukkale Flächen betroffen, was jedoch nur bei Patienten auftritt, die

regelmäßig erbrechen (Bartlett, 2006). Auch bei Alkoholikern treten intrinsische Erosionen, bedingt durch den hohen Alkoholkonsum und das Erbrechen vermehrt auf (Smith & Robb, 1989; Robb & Smith, 1990; Manarte et al., 2009).

Wichtige Faktoren für die Entstehung von Erosionen sind auch die Frequenz und Dauer der Säureexposition, die Zusammensetzung des Speichels, so wie dessen Pufferkapazität und die Fließrate (Hara et al., 2006). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Entstehung von Erosionen multifaktoriell bedingt ist (de Baat & van Nieuw Amerongen, 1997; Kelleher & Bishop, 1997; Lussi & Jäggi, 2002).

2.3 Prävention von Erosionen

Es gibt verschiedene Ansätze zur Prävention von Erosionen. Der erste Versuch sollte die Verminderung der Säureexposition sein. Handelt es sich um extrinsische Erosionen kann durch Änderung der Frequenz und des Zeitpunkts des Säurekonsums und des Zähnebürstens das Risiko des Fortschreitens vermindert werden. Leidet der Betroffene jedoch an intrinsischen Erosionen, die im Zusammenhang mit einer Essstörung stehen, sollte nicht nur zahnmedizinisch therapiert werden, sondern die Zusammenarbeit mit einem Psychologen gesucht werden (Lussi & Hellwig, 2006). Eine weitere Möglichkeit ist das Reduzieren des erosiven Potentials von Getränken. Spencer & Ellis (1950) konnten schon vor langer Zeit zeigen, dass das erosive Potential von Grapefruitsaft durch Zugabe von Fluorid reduziert werden kann. Auch das Zugeben von Kalziumphosphat und Natriumphosphat reduziert die Erosivität von Getränken (Reussner et al., 1975). Dabei muss jedoch beachtet werden, dass es aus toxikologischen Gründen nicht möglich war, genügende Mengen an Fluorid zuzugeben, die eine vollständige Non-Erosivität eines sauren Getränks zur Folge hatte (Larsen & Richards, 2002). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das erosive Potenzial eines

Getränks sinkt, je höher der pH Wert, je geringer die Säurekapazität und je höher der Gehalt an Kalzium, Phosphat und Fluorid ist (Milosevic, 1997).

Ein wichtiger Ansatz ist die Schutzwirkung durch Fluoride. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die topische Applikation auf Zahnoberflächen von Fluoriden das Erosionsrisiko senkt (Davis & Winter 1977, Wiegand & Attin, 2003; Hove et al., 2006; Lagerweij et al., 2006). Diese Schutzwirkung von Fluoriden ist auf die CaF_2 -Schicht (bzw. Kalzium-Fluorid-Präzipitat) zurückzuführen, die auf der Schmelzoberfläche nach topischer Applikation von Fluorid gebildet wird (Ten Cate, 1997). Gibt es einen Säureangriff, dissoziiert zunächst die CaF_2 -Schicht bevor die Säure den Schmelz angreifen kann (Ganss et al., 2001). Zudem kann Fluorid in Form von Fluorapatit oder Fluorhydroxylapatit im Schmelzkristall gebunden werden und reduziert so dessen Säurelöslichkeit. So puffert die CaF_2 -Schicht die Hydroxidionen während des Säureangriffs ab und wirkt andererseits wie eine mechanische Barriere zwischen der Säure und dem Schmelz (Lussi & Jaeggi, 2006). Die Bildung der CaF_2 -Schicht ist abhängig von der Konzentration und dem pH des Fluorids sowie der Dauer der Applikation (Saxegaard & Rolla, 1988). Je höher die Konzentration des Fluorids und je länger die Dauer der Applikation sind, desto dicker und stabiler wird die CaF_2 -Schicht und desto besser ist der Schutz vor Erosion (Ganss et al., 2004; Lagerweij et al., 2006).

2.4 Ziel der Studie

Das Ziel dieser Studie war es, den Einfluss der Konzentration von Aminfluorid und der Vorbehandlung mit Alkohol auf die Aufnahme von KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid zu evaluieren und deren Einfluss auf die Resistenz des Schmelzes gegenüber Erosionen zu messen (Resistenzfaktor).

Die Nullhypothese war:

- dass eine höhere Fluoridkonzentration in einer dickeren Schicht von Kalzium/Fluorid-ähnlichem Präzipitat und einer höheren Menge strukturell gebundenem Fluorid resultiert.
- dass die Säureresistenz des Schmelzes mit einer zunehmenden Fluoridkonzentration der zu applizierenden Flüssigkeit steigt.
- zudem soll die Hypothese überprüft werden, ob sich durch die Vorbehandlung des Schmelzes mit Alkohol die Aufnahme von Fluorid beeinflussen lässt.

3 Versuchsplan

Für diese Studie wurden 60 bovine Schneidezähne verwendet. Sie wurden sechs Gruppen zugeordnet (A-F). Aus jedem Zahn wurden vier Proben (1-4) gewonnen. Anschliessend wurden die Proben entweder mit Ethanol (99 %) (Gruppen A-C) oder mit NaCl (0.9 %) (Gruppen D-F) vorbehandelt. Danach wurden die Proben Nr. 1 und 2 mit NaCl (0.9 %) und die Proben Nr. 3 und 4 mit Fluoridlösung der jeweiligen Konzentration (siehe Tab 4.1) behandelt. Anschliessend wurden alle Proben mit Wasser abgespült. Es folgten die Messungen, wobei bei den Proben Nr.1 und 3 die Menge an KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid und bei den Proben Nr. 2 und 4 die Resistenz des Schmelzes gegenüber der erosiven Demineralisation und die Menge an gelöstem Kalzium bestimmt wurden. In Abb 3.1 ist der Versuchsablauf für eine der 6 Gruppen (Gruppe A) schematisch dargestellt.

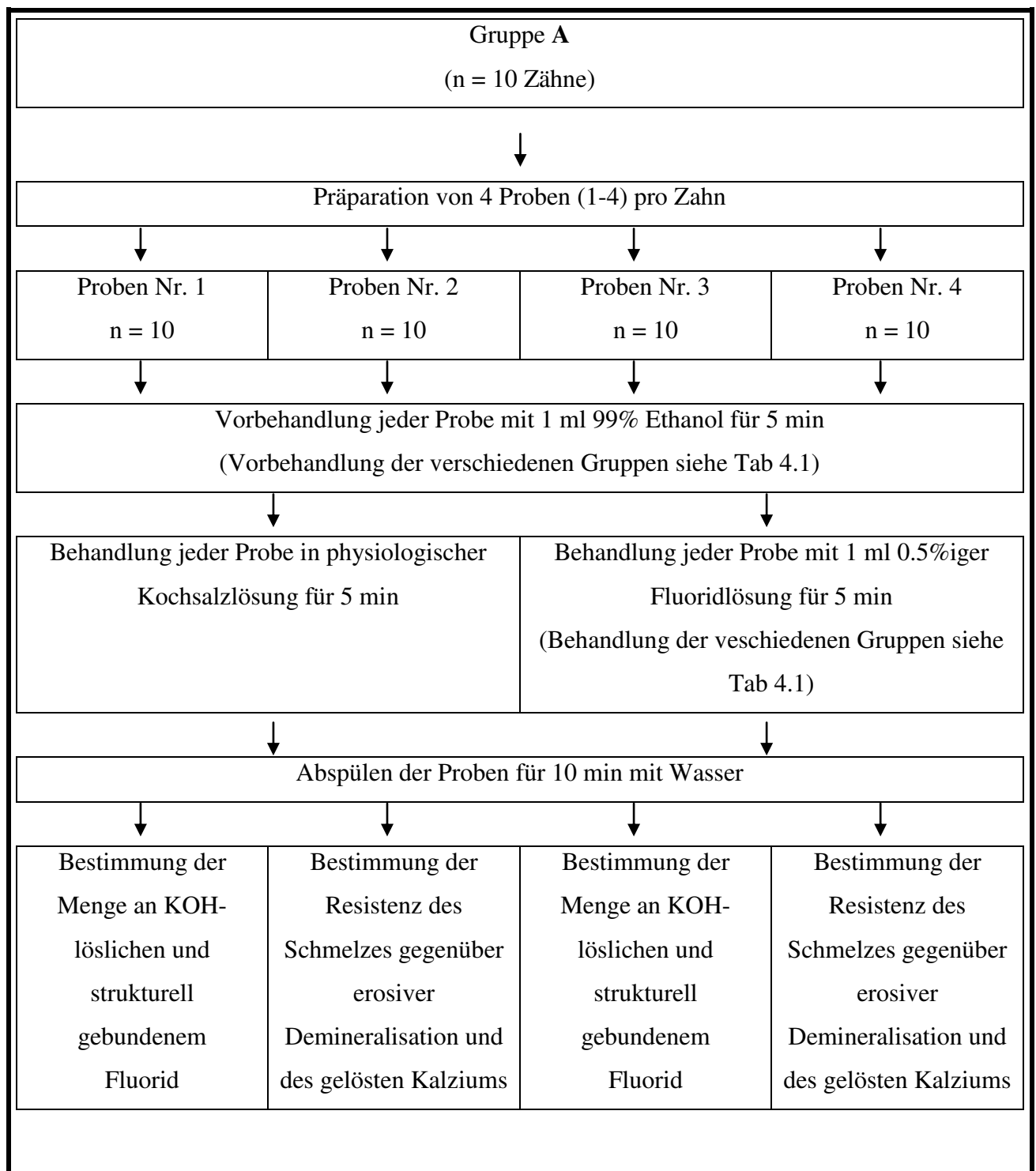


Abb. 3.1 Schematische Darstellung des Versuchsablaufs für eine Gruppe

4 Material und Methode

4.1 Die Probenherstellung

Es wurden 60 frisch extrahierte Rinderzähne (Schlachthof, 8004 Zürich, Schweiz) zur Probenherstellung verwendet und randomisiert 6 Gruppen (A-F) zugeordnet. Bis zur Probenherstellung wurden die Zähne in 0.9%iger NaCl-Lösung (Braun, 34209 Melsungen, Deutschland) gelagert. Die Zähne wurden von Geweberesten befreit und gereinigt. Die Wurzeln wurden auf Höhe der Schmelzzementgrenze mit einer diamantierten Trennscheibe (Buehler LTD., Evanston, Illinois U.S.A.) abgetrennt. Unter dem Mikroskop (Carl Zeiss AG, Deutschland, 7-35fache Vergrößerung) wurden die Zähne auf Schmelzbeschädigungen untersucht und nur einwandfreie Zähne wurden zur Probenherstellung verwendet. Die Zähne wurden zur Fixierung in einen Schraubstock (Wolfcraft GmbH, Kempenisch, Deutschland) eingespannt. Anschliessend wurden pro Zahn jeweils vier Schmelzproben (1-4) mit einem zylindrischem Bohrer (Intensiv, 6916 Grancina, Schweiz) mit einem Innendurchmesser von 3 mm aus der Labialfläche herausgefräst. Die Bohrungen erfolgten senkrecht zur Zahnoberfläche. Die Zähne und die Proben wurden nummeriert, sodass während der Dauer der Studie die Schmelzproben den jeweiligen Zähnen zugeordnet werden konnten. Anschliessend wurden die Schmelzproben in Probenformern, mit der Schmelzoberfläche nach unten, positioniert. Mit Autopolymerisat (Paladur®, Heraeus-Kulzer, 63450 Hanau, Deutschland) wurden die Schmelzproben eingebettet. Nach der Erhärtung des Autopolymerisats wurde die Schmelzoberfläche der Proben mit Schleifpapierscheiben der Korngrößen 90, 42, 15 und 3 μm (3M ESPE, Dental Products, 82229 Seefeld, Deutschland) geschliffen. Die Proben wurden geschliffen, bis keine Unebenheiten mehr sichtbar waren. Dabei wurden die obersten 200 μm entfernt und der Schmelzverlust mit einem Mikrometer (Mitutoyo, Tokyo, Japan) kontrolliert.

4.2 Vorbehandlung der Proben

Die Schmelzproben der Gruppen A, B und C wurden mit 1 ml 1M Ethanol (Merck VWR International AG, 8953 Dietikon) vorbehandelt. Dabei wurden die Schmelzproben in je 1 ml 1 M Ethanol für 5 min in Kunststoffschalen (Zellkultur Testplatte, Semadeni, Ostermündingen) eingelegt und danach abgetupft. Die Schmelzproben der Gruppen D, E und F wurden ebenfalls für 5 min in 0.9% NaCl (Braun, 34209 Melsungen, Deutschland) eingelegt (Tab. 4.1).

	Gruppen					
	A	B	C	D	E	F
Vorbehandlung	1M Ethanol für 5 min			0.9% NaCl für 5 min		
Behandlung	0.5% Fluoridlösung	1.0% Fluoridl.	1.5% Fluoridl.	0.5% Fluoridl.	1.0% Fluoridl.	1.5% Fluoridl.

Tab. 4.1 Schematische Darstellung der Probenbehandlung

4.3 Behandlung mit Fluoridlösung

Nach der Vorbehandlung wurden die Schmelzproben der verschiedenen Gruppen mit Aminfluoridlösungen (Olafluor, GABA International, 4106 Therwil) mit unterschiedlichen Konzentrationen behandelt (Tab. 4.1). Die exakten Konzentrationen und pH-Werte der Lösungen sind in Tab. 4.2. angegeben.

Lösungsnr.	% F	ppm F	mMol F	pH
1	1.46	14594	770	3.58
2	0.95	9466	498	3.68
3	0.0	9	1	4.64
4	0.45	4512	238	4.64.3

Tab.4.2 Fluoridkonzentrationen und pH-Werte

Die Schmelzproben Nr. 3 und 4 der Gruppe A und D wurden jeweils mit der Lösung Nr. 4, die Schmelzproben der Gruppe B und E mit der Lösung Nr. 2 und die Schmelzproben der Gruppe C und F mit der Lösung Nr. 1 behandelt. Dazu wurden sie für 5 min in 1 ml der jeweiligen Lösung eingelegt. Der pH der Fluoridlösung wurde bei 3.9 festgelegt und durch Beimischung von HCl und NaOH adjustiert.

Die Schmelzproben Nr. 1 aller Gruppen wurden mit der Lösung Nr. 3 (0 % Fluoridgehalt) behandelt, um den Basisgehalt an KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid zu bestimmen. Die Schmelzproben Nr. 2 aller Gruppen wurden ebenfalls mit der Lösung Nr. 3 behandelt, um an diesen die Kalziumfreisetzung ohne Fluoridbehandlung zu testen.

Nach der Behandlung mit den Fluoridlösungen wurden die Proben mit destilliertem Wasser für 10 min abgespült.

4.4 Erosion der Schmelzoberfläche und Bestimmung des gelösten Kalziums

4.4.1 Erosive Demineralisation und Probenverdünnung

Bei den Proben Nr. 2 und 4 wurde nach der Fluoridbehandlung eine erosive Demineralisation durchgeführt. Dazu wurden 10-ml-Eppendorfgläser (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) benutzt, in denen die Proben während 30 s in 1 ml Salzsäure geschwenkt wurden. Der pH der Salzsäure betrug 2.6 und wurde durch Beifügen von destilliertem Wasser eingestellt. Anschliessend wurden die Proben aus den Eppendorf-Behältern entfernt. 0.5 ml der Probenlösung wurden dem Behälter entnommen und mit dest. Wasser und Strontiumchlorid (Merck VWR, International AG, 8953 Dietikon), gemäss Tab. 4.3. im Anhang, verdünnt. Das Strontiumchlorid wurde beigegeben, um das gelöste Phosphat zu maskieren, das sonst die Kalziumbestimmung bei der Atomabsorptionsspektroskopie gestört ist.

4.4.2 Eichung des Atomabsorptionsspektrophotometers und Kalziumbestimmung

Zur Messung des Kalziums wurde das Atomabsorptionsspektrophotometer (2380, Perkin Elmer, Schwerzenbach, Schweiz) benutzt. Zur Eichung wurde eine Kalzium-Standardlösung (500 ppm Ca) hergestellt. Dazu wurden 1.249 g getrocknetes Kalziumcarbonat abgewogen und in 50 ml Aqua bidest. aufgeschlemmt. Tropfenweise wurde konzentrierte Salzsäure (max. 10 ml) zugetropft, bis das Kalziumcarbonat ganz gelöst war. Mit dest. Wasser wurde die Lösung bis auf 1000 ml verdünnt. Die Kalzium-Standardlösung wurde verwendet, um die Eichlösungen herzustellen (Tab 4.4 im Anhang).

Die Kalziumlampe des Atomabsorptionsspektrophotometer hat eine Anwärmzeit von 30 Minuten. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 422.7 nm. Nach jeder Eichung wurden 2 Blindwerte gemessen und anschliessend 12 Einzelmessungen durchgeführt bis zur nächsten Eichung. Aus den Messwerten der Eichung ergab sich die Regressionskurve. Mit Hilfe des Regressionsprogramms (Stat View, Version 5.0.1, SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA) wurde die Kalziumkonzentration für die einzelnen Absorptionswerte berechnet.

4.5 Bestimmung des KOH-löslichen Fluorids

Von den Proben 1 und 3 aller Gruppen wurde der Gehalt des KOH-löslichen Fluorids nach der von Caslavská et al. (1975) beschriebenen Methode bestimmt. Dazu wurde jede Probe für 24 Stunden in ein Eppendorfggefäss in 1 ml KOH (VWR, Merck, International AG, 8953 Dietikon) eingelegt. Nach der Entfernung der Probe wurde 0.75 ml der Lösung entnommen und mit 0.75 ml HNO_3 (VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon) und 0.75 ml TISAB (Total Ionic Strength Adjustment Buffer, Orion Research, Boston, USA) pH 5.1 verdünnt. Die Messung des KOH-löslichen Fluorids erfolgte mit der ionenselektiven Fluoridelektrode. Zusätzlich wurde in der KOH-Lösung das gelöste Kalzium bestimmt. Hierzu wurde gleich vorgegangen wie bei der erosiven Demineralisation. Die Proben wurden mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer gemessen und die Kalziumkonzentration mit dem Regressionsprogramm berechnet.

4.6 Bestimmung des gebundenen Fluorids und des gelösten Apatits

4.6.1 Bestimmung des strukturell gebundenen Fluorids

Nach der Messung des KOH-löslichen Fluorids wurden bei den Proben Nr. 1 und 3 eine Schmelzbiopsie durchgeführt, welche von Schmidlin et al. (2007) im Detail beschrieben wurde.

Bei der Schmelzbiopsie der Proben wurde 2 M Salzsäure (VWR, Merck, International Ag, 8953 Dietikon) verwendet, die auf jede Probe aufgetragen wurde. Die Entkalkungszeiten betrugen 5 Sekunden für die 1. Schicht, 10 Sekunden für die 2. Schicht und jeweils 15 Sekunden für die 3. und 4. Schicht. Nach der jeweiligen Zeiteinheit wurde die Entkalkungslösung mit einem grossen (9mm) und 3 kleinen (6mm) Disks (Antibiotika-Testplättchen, Schleicher&Schnell Microscience GmbH, 37586 Dassel, Deutschland) gesammelt. Die Disks wurden zu 2.0 ml TISAB-Verdünnungslösung (Total Ionic Strength Adjustment Buffer, Orion Reasearch, Boston, USA) zugegeben. Zur Fluorid-Konzentrationsbestimmung der Entkalkungslösung wurden die ionenselektiven Fluoridelektroden verwendet.

4.6.2 Phoshor bzw. Apatitbestimmung

Um den Gehalt an gelöstem Fluorapatit der verschiedenen Schichten zu bestimmen, wurde mit dem Spektrophotometer der Phosphorgehalt gemessen. Die Bestimmung erfolgte in 20 ml Reagenzgläsern, in welche zur Verdünnungslösung Phosphorstandardlösung (Kaliumhydrogenphosphat, VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon), dest. Wasser, Ammoniummolyptatlösung (VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon) und Metol-

Sulfit-Lösung (Metol: Kantonsapotheke, 8001 Zürich; Natriumsulfit: VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon) nach genauem Pipettierschema zugegeben wurde (siehe Anhang Tab. 4.5).

Zur Phosphorbestimmung wurden die Proben auf dem Vortex-Schüttler gemischt, anschliessend bei 37° C für 5 min im Wasserbad inkubiert und danach 5 min im kalten Wasserbad abgekühlt. Die Messung erfolgte im Spektrophotometer bei 750 nm gegen den Leerwert. Die Messungen müssen innerhalb einer Stunde erfolgen, da die Farbreaktion nicht stabil bleibt. Der Phosphorgehalt wurde folgendermassen berechnet:

$$\text{Phosphor } (\mu\text{g}) = \text{Extinktion Probe} \times \text{P-Faktor} \times 4$$

Wobei der P-Faktor wie folgt ermittelt wurde:

0.2 ml Phosphorstandard entsprechen 20 µg Phosphor, daher:

$$\frac{20}{\text{Extinktion}} = \text{P - Faktor}$$

Mit dem Phosphorwert konnte anschliessend die Apatitmenge berechnet werden, die aus dem Schmelz herausgelöst wurde. Der Anteil Phosphor im Apatit beträgt 18.528 %.

$$\text{Apatit } (\mu\text{g}) = \mu\text{g Phosphor} \times 5.397$$

4.7 Fluoridmessung mit der ionenselektiven Fluoridelektrode

4.7.1 Theorie der ionenselektiven Fluoridelektrode

Die ionenselektive Fluoridelektrode misst freie Fluoridionen in wässrigen Lösungen. In Verbindung mit dem pH/mV- und Ionometer können Fluoridbestimmungen schnell und genau durchgeführt werden. Die Fluoridaufnahme der jeweiligen Probe kann berechnet werden, indem der Basisfluoridgehalt der Proben Nr. 1 aller Gruppen vom gemessenen Fluoridwert der Proben Nr. 3 aller Gruppen subtrahiert wird.

Die Fluoridelektrode besteht aus einem Sensorelement, einer Lanthan-Fluorid-Einkristall-Membran, die von einer Kunststoffhülle umgeben ist. Der Zwischenraum bildet die Fülllösungskammer. Am unteren Ende des Sensorelements befindet sich das Referenzelement. Kommt nun das Sensorelement mit einer Fluoridlösung in Kontakt, entsteht daran ein Elektrodenpotential. Dieses Elektrodenpotential wird gegen ein konstantes Referenzpotential mit einem pH/mV-Meter gemessen und hängt von der Konzentration der in der Fluoridlösung vorhandenen freien Fluoridionen ab. Die Nernst'sche Gleichung beschreibt das Elektrodenpotential:

$$E = E_0 + S \log(A)$$

E: gemessenes Elektrodenpotential

E₀: konstantes Referenzpotential

S: Elektrodensteilheit

A: Fluoridgehalt der Lösung

Die Gesamtkonzentration der Fluoridlösung kann auch gebundene oder komplexierte Fluoridionen enthalten, die Elektrode misst jedoch nur die freien Ionen. Deshalb wird der Gesamt-Ionen-Stärke-Einstell-Puffer TISAB (Total ionic strength adjustor buffer) benutzt. Er sorgt für die Einstellung eines konstanten Ionenstärke-Hintergrundes und dient zur Einstellung des pHs und zur Dekomplexierung von Fluorid.

4.7.2 Eichung der Fluoridelektrode

Zur Direktmessung des Fluorids mit der ionenselektiven Fluoridelektrode, muss die Zusammensetzung der Eichlösungen mit derjenigen der Proben identisch sein. Aus diesem Grund wurden für die Analyse des KOH-löslichen Fluorids und des festgebundenen Fluorids verschiedene Eichlösungen hergestellt.

4.7.2.1 Eichvorgang zur Messung des KOH-löslichen Fluorids

Für die sechs Eichlösungen wurde eine 0.1 M Fluoridstandardlösung (Natriumfluorid, VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon) benutzt. Zuerst wurden mit dieser Fluoridstandardlösung Verdünnungslösungen verschiedener Konzentrationen hergestellt (siehe Tab. 4.6 **Verdünnungslösung NaF** im Anhang). Um den Gehalt an KOH-löslichen Fluoridionen zu messen, muss die Zusammensetzung der Eichlösungen der jeweiligen Zusammensetzung der zu messenden Proben entsprechen. Dazu wurde anschliessend eine **Lösung KOH** wie folgt hergestellt:

Lösung KOH:

100 ml 1M KOH

100ml 1M HNO₃

100ml TISAB pH 5.1

Den Lösungen der Verdünnungsreihe wurde von der Lösung KOH dazugegeben und mit dest. Wasser die Menge ausgeglichen, so dass sechs Eichlösungen zur Verfügung standen (Tab 4.6 im Anhang).

Zur Eichung wurden die Fluoridelektroden mit einer speziellen Referenzflüssigkeit (Orion reference electrode filling solution, Orion Research, USA) gefüllt. Anschliessend wurden die Elektroden nacheinander in 2 ml der Eichlösungen gehalten. Nach 5 min wurden die Messwerte (in mV) abgelesen und die Eichkurve aufgezeichnet.

4.7.2.2 Eichvorgang zur Messung des gebundenen Fluorids

Zur Eichung wurden 5 Lösungen hergestellt. Als Eichstandard wurde wieder NaF (2×10^{-4} Mol F/l und 2×10^{-5} Mol F/l) verwendet (Tab. 4.7 im Anhang).

Bei der Messung des gebundenen Fluorids wurde nach der Standardadditionsmethode vorgegangen. Dabei wird die Konzentration des zu messenden Ions erhöht, indem einer Standardlösung eine bestimmte Menge Probelösung zugegeben wird. Dadurch fällt der Messbereich in einen linearen Teil der Kurve und die Konzentration der Probe kann besser bestimmt werden. Bei der Berechnung wird dann die Konzentration der Vorlage vom gemessenen Wert subtrahiert und man erhält die tatsächliche Fluoridkonzentration.

Es wurde eine Verdünnungslösung hergestellt, die anschliessend für die Vorlagen verwendet wurde.

Zusammensetzung der Verdünnungslösung:

500 ml TISAB pH 5.1

490 ml dest. Wasser

10 ml 2×10^{-4} M NaF

Mit der Verdünnungslösung wurden 10 Vorlagen hergestellt, wobei jeweils 2 ml der Verdünnungslösung mit 10 μ l 2M-Salzsäure (VWR, Merck International AG, 8953 Dietikon) gemischt und 3 Papierdisks dazugegeben wurden.

4.7.3 Messvorgang und Fluoridberechnung

Bei der Messung wurde darauf geachtet, dass die Umgebungstemperatur konstant blieb, da eine Temperaturänderung von 1°C bei einer Konzentration von 10^{-3} bereits einen Messfehler von 2 % verursachen kann. Die Fluoridelektrode wurde der Reihe nach in die Eichlösungen, in die Vorlagen und in die Probelösungen eingetaucht. Nach 5 min wurden die Messwerte abgelesen. Die Potentialdifferenz zwischen den unterschiedlichen Eichlösungen soll 58-59 mV betragen. Zwischen den Messungen wurden die Elektroden mit dest. Wasser abgespült und mit einem Tuch getrocknet, um keine Verschleppung zu verursachen. Die abgelesenen Werte (in mV) wurden mit Hilfe des Regressionsprogramms umgerechnet in ppm Fluorid.

1. Berechnung des KOH-löslichen Fluorids (F_1 in $\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

$$F_1 = \frac{F_0 (\text{ppm}) \times 100}{\text{exp. onierte Schmelzoberfläche (mm}^2\text{)}}$$

2. Berechnung des gebundenen Fluorids (F_2 in $\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

$$F_2 = \frac{F_0 (\text{ppm})}{\text{exponierte Schmelzoberfläche (mm}^2\text{)} \times \text{Schichtdicke (}\mu\text{m)}}$$

$F_0(\text{ppm})$: gemessene Fluoridkonzentration

4.8 Statistische Analyse

Zur Messung der Aufnahme von KOH-löslichen Fluorid und strukturell gebundenem Fluorid wurde der gemessene Basisgehalt (Proben Nr. 1) vom gemessenen Gehalt nach Fluoridbehandlung (Probe 3) subtrahiert, wenn der Basisgehalt über der Messgrenze der Fluoridelektrode (4 mmol/l) lag (Attin et al., 2006).

Um die Zunahme der Säureresistenz des Schmelzes durch die Fluoridapplikation zu bestimmen, wurde die Kalziummenge in der Säure der Probe 2 (Basisgehalt) durch die Kalziummenge der Probe 4 (fluoridbehandelt) dividiert, was den Resistenzfaktor ergibt. Ein Faktor >1 bedeutet, dass die Säureresistenz der fluoridbehandelten Probe höher ist als die der Kontrolle. Die Reduktion der Säurelöslichkeit ist also assoziiert mit einer Zunahme des Resistenzfaktors.

Die Datenanalyse wurde mittels ANOVA und Bonferroni/Dunn post-hoc-Tests durchgeführt. Um Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich der Menge an KOH-löslichem, strukturell gebundenen Fluorid und des Resistenzfaktors zu bestimmen, wurden ungepaarte t-Tests durchgeführt. Das Signifikanzniveau betrug 95%.

5 Ergebnisse

5.1 Aufnahme des KOH-löslichen Fluorids

Die Mengen an KOH-löslichem Fluorid ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) für die einzelnen Gruppen sind in Abbildung 5.1 dargestellt. Wie in Abbildung 5.1 ersichtlich, gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied bei der Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid zwischen den beiden Arten der Vorbehandlung, wenn die Proben später mit der gleichen Konzentration Fluorid behandelt wurden. Für beide Arten der Vorbehandlung konnte eine Zunahme der Menge des KOH-löslichen Fluorids korrelierend mit einer Zunahme der Fluoridkonzentration der applizierten Lösung beobachtet werden. Beim Vergleich der Menge an KOH-löslichem Fluorid, der mit Alkohol vorbehandelten Proben, konnten signifikante Unterschiede zwischen den mit 0.5% ($57.50 \pm 13.93 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) und 1.0% ($69.99 \pm 8.25 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), 0.5% und 1.5% ($86.60 \pm 14.84 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) sowie 1.0% und 1.5% Fluoridlösungen behandelten Proben beobachtet werden ($p=0.038$, 0.001 und 0.004). Bei den mit NaCl vorbehandelten Proben konnte nur zwischen den mit 0.5% ($53.42 \pm 14.33 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) und 1.5% ($73.18 \pm 23.22 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) Fluoridlösung behandelten Proben ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0.034$) bezüglich der Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid festgestellt werden.

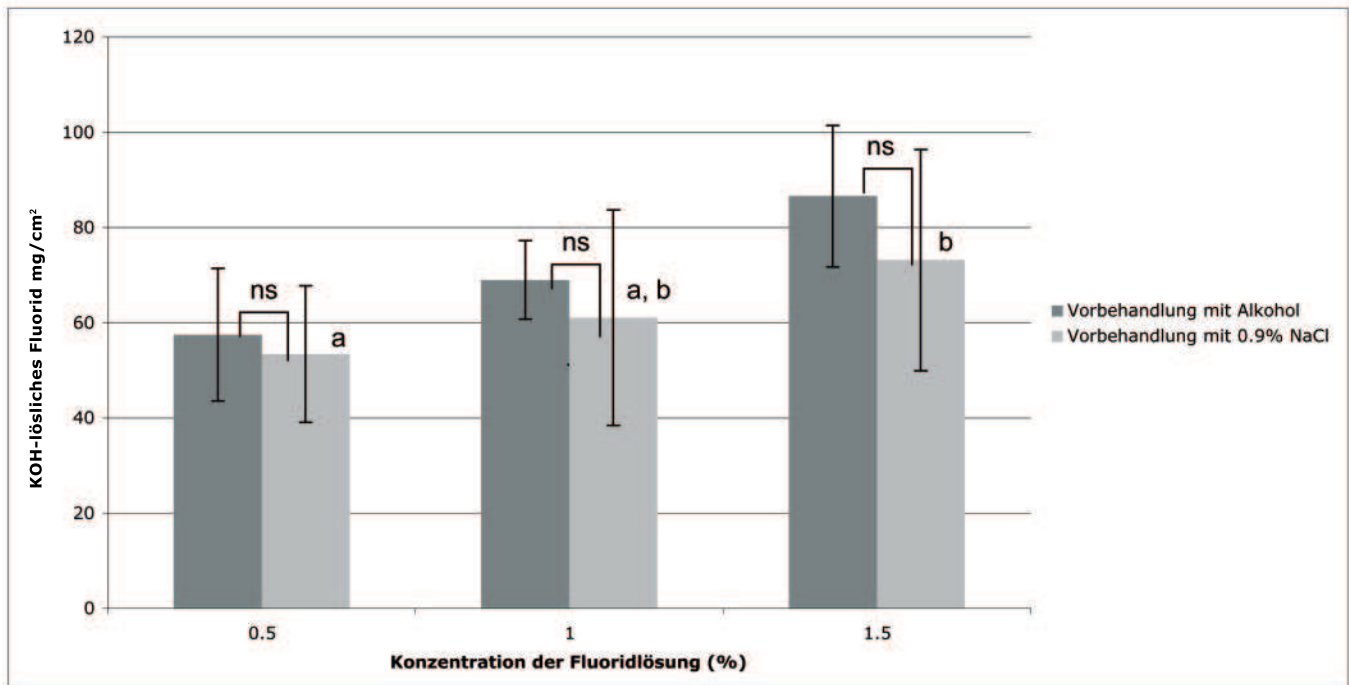


Abbildung 5.1: Menge an KOH-löslichem Fluorid ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nach Vorbehandlung mit Alkohol oder NaCl sowie Applikation verschieden konzentrierter Fluoridlösungen (0.5, 1.0 und 1.5%).

Gruppen, innerhalb derselben Art von Vorbehandlung, die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit gleichen Buchstaben markiert. Gruppen, innerhalb der gleichen Fluoridkonzentration die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit ns markiert.

5.2 Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid

Die Mengen an KOH-löslichem Fluorid ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) für die einzelnen Gruppen sind in Abbildung 5.2 dargestellt. Wie in Abbildung 5.2 ersichtlich, gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied bei der Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid zwischen den beiden Arten der Vorbehandlung, wenn die Proben anschließend mit Fluoridlösungen der gleichen Konzentration behandelt wurden. Die Menge des strukturell gebundenen Fluorids nimmt, bei beiden Arten der Vorbehandlung, mit zunehmender Fluoridkonzentration zu. Die Mengen an strukturell gebundenem Fluorid, bei den mit Alkohol vorbehandelten Proben, die später mit 0.5% ($92.67 \pm 62.19 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) und 1% ($103.51 \pm 59.57 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) Fluoridlösung behandelt wurden, war statistisch nicht signifikant unterschiedlich ($p=0.695$).

Die Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid war jedoch statistisch signifikant unterschiedlich, wenn die mit Ethanol vorbehandelten Proben, die später mit 0.5% und 1.5% ($159.35 \pm 50.16 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) und mit 1.0% und 1.5%iger Fluoridlösung behandelt wurden, verglichen wurden ($p=0.021$ und 0.042). Keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid wurden für Proben, die mit NaCl (0.9%) vorbehandelt und danach mit 0.5% ($63.69 \pm 74.46 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) und 1% ($114.06 \pm 60.42 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) sowie mit 1% und 1.5% ($163.33 \pm 45.99 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) Fluoridlösung behandelt wurden, beobachtet ($p=0.114$ und 0.550). Nur wenn die Proben, die zuerst mit NaCl (0.9%) vorbehandelt und danach mit 0.5% und 1.5%igen Fluoridlösungen behandelt wurden, verglichen wurde, konnte ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0.002$).

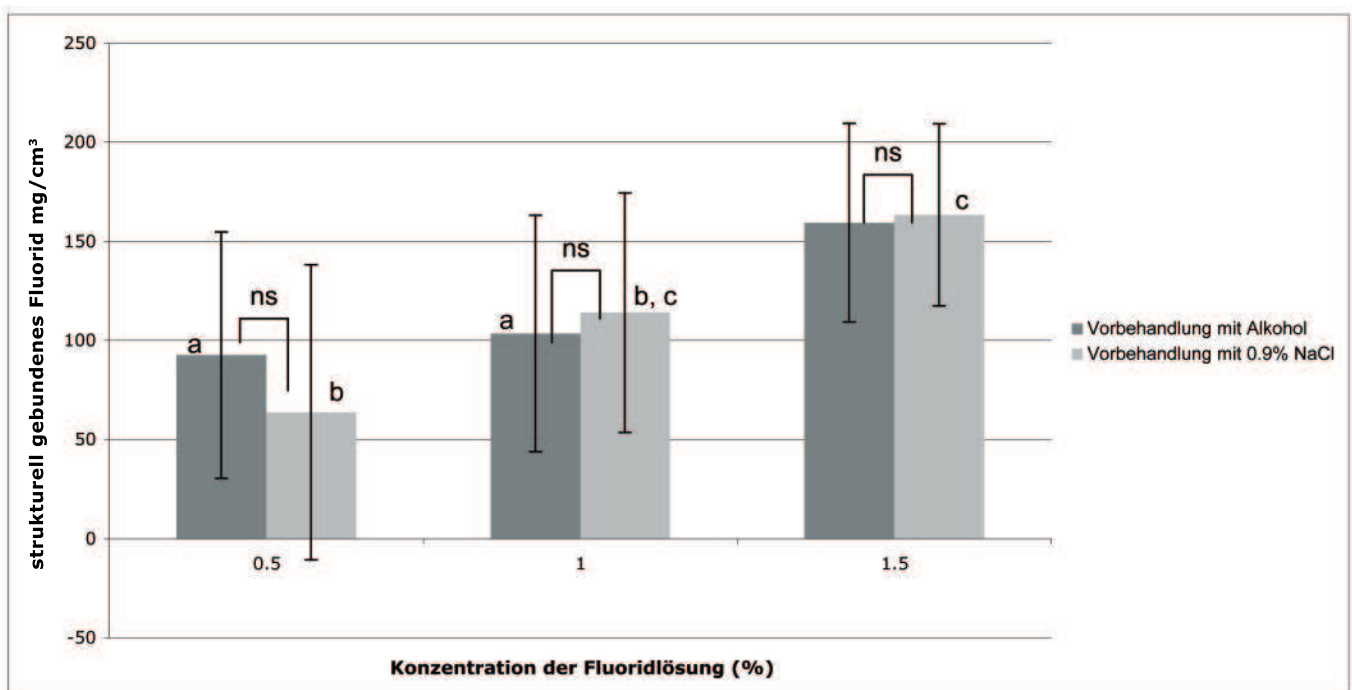


Abbildung 5.2: Menge an strukturell gebundenem Fluorid ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) nach Vorbehandlung mit Alkohol oder NaCl sowie Applikation verschieden konzentrierter Fluoridlösungen (0.5, 1.0 und 1.5%).

Gruppen, innerhalb derselben Art von Vorbehandlung, die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit gleichen Buchstaben markiert. Gruppen, innerhalb der gleichen Fluoridkonzentration die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit ns markiert.

5.3 Erosive Demineralisation bzw. Resistenzfaktor

Die Resistenzfaktoren für die einzelnen Gruppen sind in Abbildung 5.3 dargestellt.

Für beide Arten der Vorbehandlung (Alkohol oder NaCl) waren die Säureresistenzfaktoren statistisch nicht signifikant unterschiedlich, wenn die Proben anschliessend mit Fluoridlösungen gleicher Konzentration behandelt wurden. Die Resistenzfaktoren der Proben, die mit Alkohol vorbehandelt wurden und anschliessend entweder mit 1.0% (14.02 ± 6.72) oder 1.5% (13.54 ± 5.50) Fluoridlösung behandelt wurden, waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich ($p=0.865$). Im Vergleich dazu, war der Unterschied der Resistenzfaktoren zwischen den Proben die mit 0.5% Fluoridlösung (8.30 ± 2.32) und der Proben die mit 1.0% oder 1.5% Fluoridlösung behandelt wurden, statistisch signifikant ($p=0.020$ und $p=0.012$), wenn sie zuvor mit Alkohol vorbehandelt wurden. Für die Proben, die mit NaCl (0.9%) vorbehandelt wurden, wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Proben, die mit 0.5% (6.74 ± 1.90) und 1.5% Fluoridlösung (10.28 ± 5.49) sowie mit 1.0% und 1.5% Fluoridlösung behandelt wurden, festgestellt ($p=0.074$ und 0.106). Nur die Resistenzfaktoren der Proben, die mit 0.5% und 1.0% Fluoridlösung (15.67 ± 8.17) behandelt wurden, waren statistisch signifikant unterschiedlich ($p=0.004$), wenn die Proben mit NaCl (0.9%) vorbehandelt wurden.

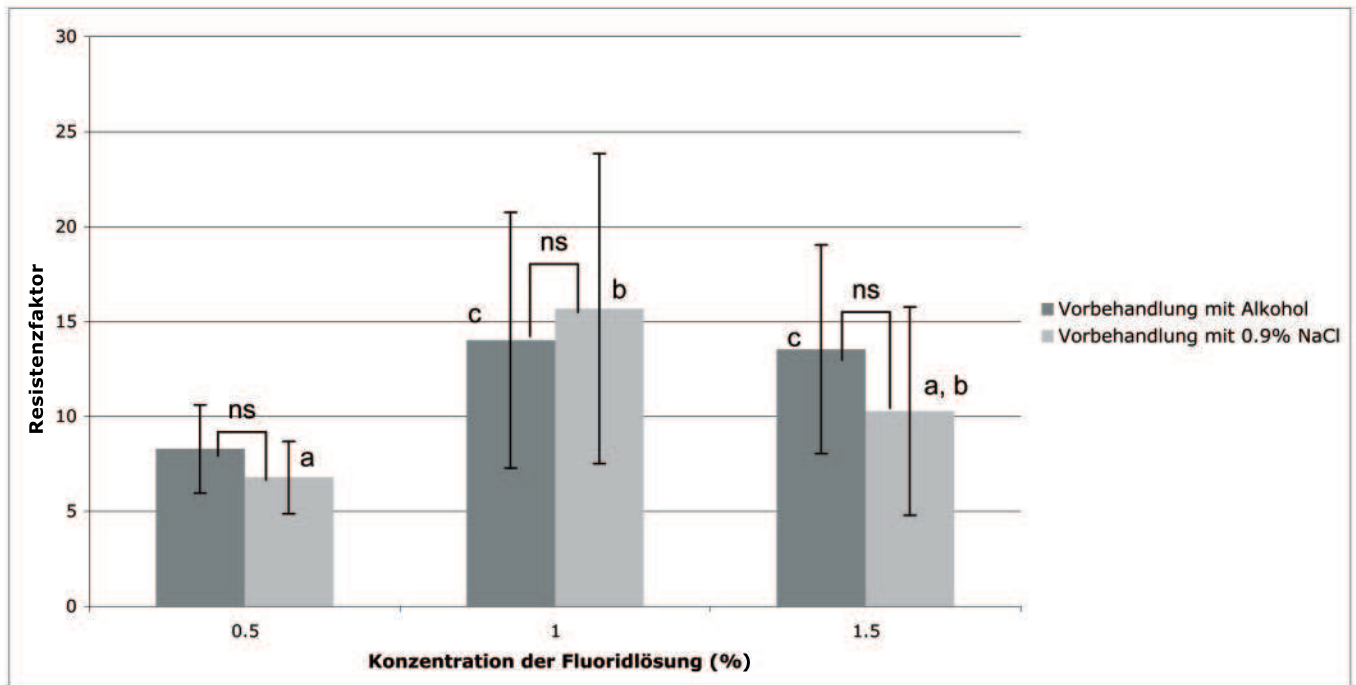


Abbildung 5.3: Säureresistenzfaktoren nach Vorbehandlung mit Alkohol oder NaCl sowie Applikation verschieden konzentrierter Fluoridlösungen (0.5, 1.0 und 1.5%).

Gruppen, innerhalb derselben Art von Vorbehandlung, die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit gleichen Buchstaben markiert. Gruppen, innerhalb der gleichen Fluoridkonzentration die nicht signifikant unterschiedlich sind, sind mit ns markiert.

6 Diskussion

6.1 Material und Methode

Die Schmelzproben in dieser Studie wurden von unteren bovinen Schneidezähnen gewonnen, da so einfacher eine genügende Menge von Zähnen zur Verfügung gestellt werden konnte (Oesterle et al., 1998). Zudem macht es die Grösse der bovinen Schneidezähne möglich, mehrere Proben aus einem Zahn zu gewinnen, sodass unbehandelte Kontrollproben von jedem Zahn zur Verfügung stehen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen humanem und bovinem Schmelz gibt, was den Gehalt und die Verteilung der Mineralien im Schmelz betrifft (Davidson et al., 1973; Gente et al., 1985, Esser et al., 1998).

Auch andere Studien haben bovinen Schmelz verwendet, um die Interaktion von Fluorid mit Schmelz und die Bildung von Kalzium-Fluorid-Präzipitat zu untersuchen (Attin et al., 1995; Harding et al., 1994; Modesto et al., 1997). Andere Studien haben humanen Schmelz verwendet, um diese Themen zu untersuchen (Ganss et al., 2007). Bovine Zähne haben jedoch den Vorteil, dass sie aus der gleichen Region mit ähnlichen Umweltfaktoren stammen, im Gegensatz zu humanen Zähnen jedoch kariesfrei sind und keinen Einfluss von fluoridiertem Salz oder Zahnpasta ausgesetzt waren.

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass eine höhere Fluoridkonzentration nicht in einer höheren Menge von KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid resultiert (Rosin-Grget et al., 2002; Rosin-Grget et al. 2007). Vorversuche in unserem Labor zeigten jedoch, dass sich die Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid erhöhen lässt, wenn der Schmelz vor der Fluoridbehandlung mit Ethanol dehydriert wird, analog zur Dehydration von histologischen Präparaten vor der Einbettung (Chaurand et al. 2008), um so die Aufnahme von Wasser zu

verstärken. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden die Proben bei der Vorbehandlung in zwei Gruppen geteilt, wobei eine mit Ethanol (1M) und die andere mit NaCl (0.9%) vorbehandelt wurde.

In dieser Studie wurde die Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid, nach der von Caslavska et al. (1975) beschriebenen Methode, bestimmt. In verschiedenen Studien, die sich ebenfalls mit der Aufnahme von Fluorid beschäftigten, wurde diese Methode angewandt (Modesto et al., 1997; Ganss et al., 2007; Buchalla et al., 2002). Eine andere Methode, um die Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid zu messen, ist die Raman Spektroskopie, die in gewissen Studien verwendet wurde (Arends et al., 1988; Tsuda & Arends, 1997). Da die Methode von Caslavska et al. (1975) in unserem Labor gut etabliert ist, und die Sensitivität der Raman Spektroskopie nicht hoch genug ist, um die Bildung des Kalzium-Fluorid-Präzipitats nach der Applikation von gewissen Fluoridarten zu messen (Tsuda & Arends, 1997), wurde in dieser Studie die Methode von Caslavska et al. (1975) verwendet.

Die Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid wurde bestimmt, indem Salzsäure auf die Proben appliziert, nach einer gewissen Zeit entfernt wurde und anschliessend der Fluoridgehalt dieser Lösung bestimmt wurde. Diese sogenannte Technik der Säureätzbiopsie wurde in verschiedenen anderen Studien angewendet (Maia et al., 2003; Acuna et al., 1990; Schmidlin et al., 2007; Shashikirian et al., 2003). Die Aufnahme von strukturell gebundenem Fluorid kann auch mit der Methode nach Hellwig et al. (1989) bestimmt werden. Dabei werden von der Probenoberfläche drei 33 µm dicke Schichten mit einer Handschleifapparatur abgeschliffen. Der Schleifstaub wird gesammelt und dessen Fluoridgehalt bestimmt.

6.2 Ergebnisse

Die Proben der Gruppen A bis C wurden mit Ethanol vorbehandelt um die Aufnahme von Fluorid in den Schmelz zu verstärken. Die mit Ethanol vorbehandelten Proben zeigten eine schwach höhere Aufnahme von Fluorid, auch wenn der Unterschied statistisch nicht signifikant war. Der Grund hierfür ist möglicherweise der sehr geringe Anteil von Wasser im Schmelz, der nur eine geringe Diffusion von Wasser erlaubt.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass die Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid von der Konzentration der applizierten Fluoridlösung abhängt und nicht von der Art der Vorbehandlung. Das gleiche Resultat erhielten Rosin-Grget et al. (2007), auch wenn es statistisch nicht signifikant war. Um ein Kalzium-Fluorid-Präzipitat zu bilden, ist das Vorhandensein von Kalzium-Ionen, unabhängig ihrer Herkunft (z.B. Schmelz, Speichel oder Plaque), ein wichtiger Faktor (Petzold 2001). Da der pH-Wert der verwendeten Fluoridlösungen auf 3.9 eingestellt war, kann davon ausgegangen werden, dass Kalziumionen aus dem Schmelz gelöst werden, wie es auch während einer Erosion geschieht (Hannig et al., 2005). Diese gelösten Kalziumionen reagieren mit den Fluoridionen, die in den applizierten Fluoridlösungen enthalten sind (Rolla & Saxegaard, 1990). Solange genug Kalziumionen, aufgrund des niedrigen pH-Werts der Fluoridlösung, aus dem Schmelz herausgelöst werden, wird durch höhere Fluoridkonzentrationen mehr Kalzium-Fluorid-Präzipitat gebildet. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Rosin-Grget et al. (2002), wurden in dieser Studie signifikante Unterschiede bei der Menge des KOH-löslichen Fluorids gefunden. Je höher die Konzentration der applizierten Fluoridlösung war (0.5, 1.0, 1.5%), desto mehr KOH-lösliches Fluorid konnte nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz der Ergebnisse kann damit erklärt werden, dass der pH-Wert der Lösungen dieser Studie, im Vergleich zur Studie von Rosin-Grget et al. (2002), niedriger war. Dadurch wurden mehr Kalziumionen aus dem Schmelz herausgelöst und somit auch mehr Kalzium-Fluorid-Präzipitat gebildet.

Für das strukturell gebundene Fluorid wurden ähnliche Ergebnisse gefunden. Die Fluoridaufnahme korrelierte mit der Konzentration der Fluoridlösungen, was auch in anderen Studien festgestellt wurde (Rosin-Grget et al., 2002; Rosin-Grget et al., 2007).

Die gemessenen Resistenzfaktoren dieser Studie waren in einem ähnlichen Bereich wie in früheren Studien (Ganss et al., 2001; Hughes et al., 2004). Trotzdem zeigt diese Studie unerwartete Ergebnisse, den Resistenzfaktor betreffend. Der Resistenzfaktor war nicht höher bei der Applikation der höchsten Fluoridkonzentration (1.5%), als bei Verwendung der 1%igen Fluoridlösung. Die grösste Reduktion der Säurelöslichkeit wurde durch die Behandlung mit der 1%igen Fluoridlösung erreicht, unabhängig davon, ob die Probe mit Ethanol vorbehandelt wurde oder nicht. Dieses Ergebnis kann mit der Zusammensetzung des Kalzium-Fluorid-Präzipitats, das KOH-löslich ist, erklärt werden. Dieses setzt sich zusammen aus dem Fluorid der applizierten Fluoridlösung und dem Kalzium, das während der Applikation aus dem Schmelz gelöst wird. In dieser Studie war die Menge des KOH-löslichen Fluorids am grössten, wenn eine 1.5%ige Lösung appliziert wurde. Es kann also gesagt werden, dass eine grosse Menge an Kalzium auf der Oberfläche der Proben vorhanden ist. Während eines erosiven Säureangriffs wird mehr Kalziumfluorid aus der Schicht des Kalzium-Fluorid-Präzipitats herausgelöst als aus dem Schmelz (Larsen & Richards, 2002; Wang et al., 2008). Dies bedeutet, dass die Proben mit mehr Kalzium-Fluorid-Präzipitat im Vergleich zu den unbehandelten Proben eine höhere Menge an gelöstem Kalzium zeigen, als die Proben, die mit einer niedrigeren Fluoridkonzentration behandelt wurden. Es kann darüber diskutiert werden, dass dieses gelöste Kalzium aus dem Kalzium-Fluorid-Präzipitat stammt und nicht vom darunterliegenden Schmelz. Es ist jedoch zu beachten, dass das Kalzium des Kalzium-Fluorid-Präzipitats zuvor bei der Behandlung mit der Fluoridlösung aus dem Schmelz herausgelöst worden ist, da weder Kalzium in der Fluoridlösung, noch Speichel vorhanden war. Daraus ist zu schliessen, dass der Verlust des Kalziums schon während der Applikation der Fluoridlösung geschieht und während der erosiven Demineralisation

endgültig verloren geht. Es kann spekuliert werden, ob die Situation in situ anders wäre, weil der vorhandene Speichel auch zur Bildung und Stabilisierung eines Kalzium-Fluorid-Präzipitats beiträgt (Larsen & Richards, 2001). Andere Studien zeigen jedoch, dass auch bei Anwesenheit von Speichel nicht mehr Kalziumfluorid gebildet wird (Hellwig et al., 1985; Cruz & Rolla et al., 1991). Um diese Fragen zu klären, sollten weitere In-situ-Studien durchgeführt werden.

6.3 Schlussfolgerung

Die Resultate dieser Studie zeigen eine Dosis-Abhängigkeit zwischen der Konzentration des applizierten Fluorids und der Menge des KOH-löslichen und strukturell gebundenen Fluorids. Keine Dosis-Abhängigkeit besteht zwischen der Konzentration des applizierten Fluorids und der Säureresistenz des mit Salzsäure (HCl) behandelten Schmelzes. Die Resistenz des Schmelzes gegenüber erosiver Demineralisation wurde bestimmt, indem die Kalziumlöslichkeit durch HCl gemessen wurde. Es ist zu betonen, dass das in der Lösung gemessene Kalzium vom oberflächlichen Kalzium-Fluorid-Präzipitat, möglicherweise aber auch vom darunterliegenden Schmelz stammt. Da das im Kalzium-Fluorid-Präzipitat enthaltene Kalzium vom Schmelz stammt, ist daraus zu schliessen, dass der Resistenzfaktor die Anfälligkeit des Schmelzes gegenüber Säure, sprich die Kalziumlöslichkeit nach einer Fluoridbehandlung, widerspiegelt.

7 Zusammenfassung

Ziel der Studie: Ziel dieser Studie war es, den Zusammenhang zwischen der Aufnahme von KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid in den Schmelz, sowie die Resistenz des Schmelzes gegenüber erosiver Demineralisation zu untersuchen. Zusätzlich wurde der Einfluss der Vorbehandlung des Schmelzes mit Alkohol vor der Applikation von Fluorid bestimmt.

Material und Methode: Sechzig bovine Schneidezähne (vier Proben pro Zahn) wurden randomisiert sechs Gruppen (A-F) zugeordnet. Die Proben Nr. 1 und 2 blieben unbehandelt und dienten als Kontrollen des Basisgehalts an Fluorid. Die Proben wurden mit 99%igem Alkohol (Gruppen A B und C) oder mit physiologischer Kochsalzlösung (Gruppen D, E und F) während 5 min vorbehandelt. Die Proben Nr. 3 und 4 wurden entweder mit 0.5% (Gruppen A und D), mit 1.0% (Gruppen B und E) oder mit 1.5%iger Fluoridlösung (Gruppen C und F) behandelt. Bei den Proben Nr. 1 und 3 wurde die Aufnahme von KOH-löslichem Fluorid und strukturell gebundenem Fluorid gemessen. Die Proben Nr. 2 und 4 wurden benutzt, um die Säurelöslichkeit des Schmelzes, durch Behandlung mit 1 ml HCl für 30 s, zu bestimmen. Die Kalziumfreisetzung des Schmelzes in HCl wurde mit einer Atomabsorptionsspektroskopie gemessen. Der Vergleich der Gruppen wurden mittels ungepaarten t-Tests ($p \leq 0.05$) durchgeführt.

Resultate: Die verschiedenen Arten der Vorbehandlung zeigten keinen Einfluss auf die Fluoridaufnahme. Die Aufnahme von KOH-löslichem und strukturell gebundenem Fluorid in den Schmelz nahm mit steigender Fluoridkonzentration zu. Die grösste Resistenz des Schmelzes gegenüber erosiver Demineralisation wurde nach Behandlung mit 1% Fluoridlösung, gefolgt von 1.5% und 0.5% Fluoridlösung, beobachtet.

Zusammenfassung: Eine Abhängigkeit der Fluoridkonzentration wurde bei der Fluoridaufnahme beobachtet, jedoch nicht bei der Resistenz des Schmelzes gegenüber erosiver Demineralisation.

8 Literaturverzeichnis

Acuna V, von Beetzen M, Caracatsanis M, Sundstrom F (1990):

In vitro fluoride uptake by enamel and dentin. A comparative study of two varnishes.

Acta Odontol Scand 48: 89-92

Aeschbacher M (1967):

Die Erweichung der Schmelzoberfläche durch Fruchtsäfte unter In-vitro-Bedingungen.

Schweiz Monatsschr Zahnheilkd 77: 58-62

Arends J & Jongebloed WL (1978):

Crystallite dimension of enamel.

J Biol Buccale 6: 161-171

Arends J, Reintsema H, Dijkman TG (1988):

‚Calcium fluoride like‘ material formed in partially demineralized human enamel in vivo owing to the action of fluoridated toothpastes.

Acta Odontol Scand 46(6): 347-53

Arowojolu MO (2001):

Erosion of tooth enamel surfaces among battery chargers and automobile mechanics in Ibadan: a comparative study.

Afr J Med Med Sci 30(1-2): 5-8

Attin T, Hartmann O, Hilgers RD, Hellwig E (1995):

Fluoride retention of incipient enamel lesions after treatment with a calcium fluoride varnish in vivo.

Arch Oral Biol 40: 169-74

Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A (2005):

Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion.

Oral Dis 11:7-12

Attin T, Albrecht K, Becker K, Hannig C, Wiegand A (2006):

Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake.

J Dent 34: 668-75

Bartlett D (2006):

Intrinsic causes of erosion.

Monogr Oral Sci Basel, Karger vol 20, pp 119-139

Bartlett DW, Coward PY (2001):

Comparison of erosive potential of gastric juice and a carbonated drink in vitro.

J Oral Rehabil 28: 1045-1047

Bartlett DW, Coward PY, Nikkah C, Wilson RF (1998):

The prevalence of tooth wear in cluster sample of adolescent school children and its relationship with potential explanatory factors.

Br Dent J 184: 125-9

Bartlett DW, Evans DF, Anggiansah A, Smith BG (1996):

A study of the association between gastro-oesophageal reflux and palatal dental erosion.

Br Dent J 181:125-31

Boyde A (1964):

The structure and development of mammalian enamel.

Ph.D. Thesis, University of London

Buchalla W, Attin T, Schulte-Monting J, Hellwig E (2002):

Fluoride uptake, retention, and remineralization efficacy of a highly concentrated fluoride solution on enamel lesions in situ.

J Dent Res 81: 329-33

Cavaldini C, Siega-Riz AM, Popkin BM (2000):

US adolescent food intake trends from 1965 to 1996.

Arch Dis Child 83: 18-24

Carlström D (1964):

Polarization microscopy of dental enamel.

Adv in Oral Biol 1: 255-296

Caslavska V, Moreno EC, Brudevold F (1975):

Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions.

Arch Oral Biol 20: 333-339

Chaurand P, Latham JC, Lane KB, Mobley JA, Polosukhin VV, Wirth PS, et al. (2008):

Imaging mass spectrometry of intact proteins from alcohol-preserved tissue specimens: bypassing formalin fixation.

J Proteome Res 7: 3543-55

Cruz R, Rolla G (1991):

Deposition of alkali-soluble fluoride on enamel surface with or without pellicle.

Scand J Dent Res 99: 96-9

Davidson CL, Boom G, Arends J (1973):

Calcium distribution in human and bovine surface enamel.

Caries Res 7: 349-59

Davis WB, Winter PJ (1977):

Dietary erosion of adult dentine and enamel. Protection with a fluoride toothpaste.

Br Dent J 143: 116-9

De Baat C, van Nieuw Amerongen A (1997):

Tooth wear. Classification and terminology.

Ned Tijdschr Tandheelkd 104: 138-41

Eccles JD (1982):

Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion.

Dent Update 9: 373-381

Eccles JD, Jenkins WG (1974):

Dental erosion and diet.

J Dent 2: 153-159

Edwards M, Creanor SL, Foye RH, Gilmour WH (1999):

Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion.

J Oral Rehabil 26: 923-7

Esser M, Tinschert J, Marx R (1998):

Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz.

Dtsch Zahnärztl Z 53: 713-7

Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW (1979):

A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in vitro caries simulation on human tooth enamel.

Arch Oral Biol 24:101-112

Featherstone JDB, Lussi A (2006):

Understanding the Chemistry of Dental Erosion.

Monogr Oral Sci, Basel, Karger, vol 20, pp 66-76

Ganss C, J. Klimek, V. Brune and A. Schürmann (2004):

Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ.

Caries Res 38: 561-566

Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T (2001):

Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro.

Caries Res 35: 325-30

Ganss C, Schlueter N, Klimek J (2007):

Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions—a comparison of in vitro and in situ results.

Arch Oral Biol 52: 9-14

Gente M, Sondermann U, Lehmann KM (1985):

Linear coefficient of thermal expansion for bovine enamel and dentine.

Dtsch Zahnärztl Z 40: 488-90

Geurtsen W (2000):

Rapid general dental erosion by gas-chlorinated swimming pool water: review of the literature and case report.

Am J Dent 13: 291-293

Giunta JL (1983):

Dental erosion resulting from chewable vitamin C tablets.

J Am Dent Assoc 107: 253-256

Grace EG, Sarlani E, Kaplan S (2004):

Tooth erosion caused by chewing aspirin.

J Am Dent Assoc 135: 911-914

Graehn G (1991):

Acid erosions of tooth surface. Influence of saliva, medicaments, fruit acids and mechanical stress.

Dtsch Stomatol 41: 494-9

Gwinnett AJ (1966):

The ultrastructure of the “prismless” enamel of deciduous teeth.

Arch Oral Biol 11: 1109

Gwinnet AJ (1967):

The ultrastructure of the “prismless” enamel of permanent human teeth.

Arch Oral Biol 12: 381

Hallsworth AS, Weatherell JA (1969):

The microdistribution, uptake and loss of fluoride in human enamel.

Caries Res 3: 109

Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T (2005):

Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro.

Arch Oral Biol 50: 541-52

Hannig C, Hannig M, Attin T (2005):

Enzymes in the acquired enamel pellicle.

Eur J Oral Sci 113: 2-13

Hara AT, Lussi A, Zero DT (2006):

Dental Erosion. Biological Factors.

Monogr Oral Sci. Basel, Karger, vol 20, pp 88-99

Harding AM, Zero DT, Featherstone JBD, McCormack SM, Shields CP, Proskin HM (1994):

Calcium fluoride formation on sound enamel using fluoride solutions with and without lactate.

Caries Res 28: 1-8

Hellström J (1977):

Oral complications in anorexia nervosa.

Scand J Dent Res 85: 71-86

Hellwig E, Klimek J, Albert G (1989):

In-vivo-Retention angelagerten und festgebundenen Fluorids in demineralisiertem Zahnschmelz.

Dtsch Zahnärztl Z 44: 173-176

Hellwig E, Klimek J, Attin T (1999):

Einführung in die Zahnerhaltung. 2. Auflage, Urban und Fischer,

München-Jena: 3-45

Hellwig E, Lussi A (2006):

Oral hygiene products and acidic medicines.

Monogr Oral Sci 20: 112-8

Hellwig E, Klimek J, Schmidt HF, Egerer R (1985):

Fluoride uptake in plaque-covered enamel after treatment with the fluoride lacquer Duraphat.

J Dent Res 64: 1080-3

Hooper S, Hughes J, Parker D, Finke M, Newcombe RG, Addy M, West N (2007):

A clinical study in situ to assess the effect of a food approved polymer on the erosion potential of drinks.

J Dent 35: 541-6

Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB (2006):

The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry.

Caries Research 40: 440-443

Hughes JA, West NX, Addy M (2004):

The protective effect of fluoride treatments against enamel erosion in vitro.

J Oral Rehabil 31: 357-63

Hunt JN (1951):

The composition of gastric juice.

J Physiol 113: 419-24

Järvinen V, Meurmann JH, Hyvarinen H, Rytömaa I, Murtomaa H (1988):

Dental erosion and upper gastrointestinal disorders.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 65: 298-303

Järvinen VK, Rytömaa II, Heinonen OP (1991):

Risk factors in dental erosion.

J Dent Res 70: 942-947

Kelleher M, Bishop K (1997):

The aetiology and clinical appearance of tooth wear.

Eur J Prostodont Restor Dent 5: 157-60

Kerebel B, Dalcusi G, Kerebel M (1979):

Ultrastructural studies of enamel crystallites.

J Dent Res 58: 844-850

Lagerweij M.D, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T (2006):

Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies.

Caries Res 40: 148-153

Larsen MJ, Nyvad B (1999):

Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate.

Caries Res 33: 81-7

Larsen MJ, Richards A (2001):

The influence of saliva on the formation of calcium fluoride-like material on human dental enamel.

Caries Res 35: 57-60

Larsen MJ, Richards A (2002):

Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks.

Caries Res 36: 75-80

Losee FL, Cutress TW, Brown R (1974):

Natural elements of the periodic table in human dental enamel.

Caries Res 8: 123

Lussi A (2006):

Erosive Tooth Wear-A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge.

Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 1-8

Lussi A, Hellwig E (2001):

Erosive potential of oral care products.

Caries Res 35: 52-56

Lussi A, Hellwig E (2006):

Risk Assessment and Preventive Measures.

Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 190-199

Lussi A & Jaeggi T (2002)

Die Abrasion erosive veränderter Zahnhartsubstanz- eine Literaturübersicht. Schweiz Monatsschr Zahnmed 112: 6

Lussi A & Jaeggi T (2006)

Chemical Factors. Dental Erosion.

Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 77-87

Lussi A, Jaeggi T, Zero D (2004):

The role of diet in the aetiology of dental erosion.

Caries Res 38 (Suppl 1): 34-44

Lussi A., Schaffner M., Hotz P., Suter P. (1992):

Erosion der Zahnhartsubstanz. Epidemiologie, klinisches Erscheinungsbild, Risikofaktoren und Verhaltensregeln.

Schweiz Monatssch Zahnmed 102: 321-327

Lynch JB & Bell J (1947):

Dental erosion in workers exposed to inorganic acid fumes.

Br J Ind Med 4: 84-6

Maia LC, de Souza IP, Cury JA (2003):

Effect of a combination of fluoride dentifrice and varnish on enamel surface rehardening and fluoride uptake in vitro.

Eur J Oral Sci 111: 68-72

Manarte P, Manso MC, Souza D, Frias-Bulhosa J, Gago S (2009):

Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy.

Med Oral Patol Oral Cir Bucal 14: 376-83

Marthaler T, Menghini G, Steiner M (2005):

Use of the Significant Caries Index quantifying the changes in caries in Switzerland from 1964 to 2000.

Community Dent Oral Epidemiol 33: 159-66

Meurman JH & Frank RM (1991):

Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion.

Caries Res 25: 1-6

Meurman JH, Ten Cate JM (1996):

Pathogenesis and modifying factors of dental erosion.

Eur J Oral Sci 104: 199-206

Meurman JH, Toskala J, Nuutinen P, Klemetti E (1994):

Oral and dental manifestations in gastro-oesophageal reflux disease.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 78: 583-589

Milosevic A (1997):

Sports drinks hazard to teeth.

Br J Sports Med 31: 28-30

Mistry M, Grenby TH (1993):

Erosion by soft drinks of rat molar teeth assessed by digital image analysis.

Caries Res 27: 21-25

Modesto A, Souza I, Cordeiro P, Silva L, Primo L, Vianna R (1997):

Fluoride uptake in situ after the use of dental floss with fluoride.

J Clin Dent 8: 142-4

Nikiforuk G, Sognnaes RF (1966):

Dental enamel.

Clin Orthop Relat Res 47: 229-48

Norén JG, Lodding A, Odelius H, Linde A (1983):

Secondary ion mass spectrometry of human deciduous enamel.

Caries Res 17: 496

Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A (2003):

Dental erosion – changing prevalence? A review of British National children's surveys.

Int J Paediatr Dent 13: 98-105

Nylen MU, Eanes ED, Omnell VA (1963):

Crystal growth in rat enamel.

J Cell Biol 18: 109-123

Oesterle LJ, Shellhart WC, Belanger GK (1998):

The use of bovine enamel in bonding studies.

Am J Orthod Dentofacial Orthop 114: 14-9

Petersson GH, Brathall D (1996):

The caries decline: a review of reviews.

Eur J Oral Sci 104: 436-43

Petersen PE, Gormsen C (1991):

Oral conditions among German battery factory workers.

Community Dent Oral Epidemiol, 19: 104-6

Petzold M (2001):

The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF_2 precipitation and microstructure.

Caries Res 35(Suppl. 1): 45-51

Pindborg JJ (1970):

Pathology of the dental hard tissues.

Copenhagen: Munksgaard: 312-21

Poole DFG & Brooks AW (1961):

The arrangement of crystallites in enamel prisms.

Arch Oral Biol 5: 14-26

Reussner GH, Coccodrilli GJ, Thiessen RJ (1975):

Effects of phosphates in acid containing beverages on tooth erosion.

J Dent Res 54: 365-70

Rolla G, Saxegaard E (1990):

Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition.

J Dent Res 69: 780-5

Rosin-Grget K, Lincir I, Andrijanic A (2002):

In vitro fluoride uptake by enamel from different amine fluoride concentrations.

Caries Res 36: 266-9

Rosin-Grget K, Sutej I, Lincir I (2007):

The effect of saliva on the formation of KOH-soluble fluoride after topical application of amine fluoride solutions of varying fluoride concentration and pH.

Caries Res 41: 235-8

Robb ND, Smith BG (1990):

Prevalence of pathological tooth wear in patients with chronic alcoholism.

Br Dent J 169: 367-369

Roberts MW, Tylanda CA (1989):

Dental aspects of anorexia and bulimia nervosa.

Pediatrician 16: 178-84

Saxegaard E, Rolla G (1988):

Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro.

Scand J Dent Res 96: 523-535

Schmidlin PR, Dorig I, Lussi A, Roos M, Imfeld T (2007):

CO₂ laserirradiation through topically applied fluoride increases acid resistance of demineralised human enamel in vitro.

Oral Health Prev Dent 5: 201-8

Schroeder HE (1992):

Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks.

4. überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York: 75-76

Scott DB (1953)

Recent contribution in dental histology by use of the electron microscope.

Int Dent J 4: 64

Selvig KA, Halse A (1972):

Crystal growth in rat incisor enamel.

Anat Rec 153: 453-468

Shashikirian ND, Kumar NC, Subba Reddy VV (2003):

Fluoride uptake by enamel and dentin from bonding agents and composite resins: a comparative study.

J Indian Soc Pedod Prev Dent 21: 125-30

Smith BGN, Knight JK (1982):

Dental erosion due to anorexia nervosa with bulimia.

Br Dent J 152: 187

Smith BGN, Knight JK (1984):

A comparison of patterns of tooth wear with aetiological factors.

Br Dent J 157: 16-19

Smith BG, Robb ND (1989):

Dental erosion in patients with chronic alcoholism.

J Dent 17: 219-21

Speirs, RL (1971):

The nature of surface enamel in human teeth.

Calcif Tiss Res 8: 1

Spencer AJJ, Ellis LN (1950):

The effect of fluoride and grapefruit juice on the etching of teeth.

J Nutr 42: 107-15

Stack MV (1967):

Chemical organization of the organic matrix of enamel. In Miles AEW: Structural and Chemical Organization of Teeth, vol. II.

Academic Press, New York: 317

Ten Bruggen Cate HJ (1968):

Dental erosion in industry.

Br J Med 25: 249-266

Ten Cate JM (1997):

Review on fluoride with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention.

Eur J Oral Sci 105: 461-5

Ten Cate JM, Imfeld T (1996):

Dental erosion, summary.

Eur J Oral Sci 104: 241-244

Thylstrup A & Fjerskov O (1994):

Clinical and pathological features of dental caries.

Textbook of clinical cariology, Munksgaard, Copenhagen

Tsuda H, Arends J (1997):

Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies.

Adv Dent Res 11: 539-47

Tuominen ML, Tuominen RJ, Fubusa F, Mgalula N (1991):

Tooth surface loss and exposure to organic and inorganic acid fumes in workplace air.

Community Dent Oral Epidemiol 19: 217-20

Wang X, Klocke A, Mihailova B, Tosheva L, Bismayer U (2008):

New insights into structural alteration of enamel apatite induced by citric acid and sodium fluoride solutions.

J Phys Chem B 112: 8840-8

West NX, Hughes JA, Addy M (2000):

Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time.

J Oral Rehabil 27: 875-80

Wiegand A, Attin T (2003) :

Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions-a review.

Oral Health Prev Dent 1: 245-53

Wiegand A, Wegehaupt F, Werner C, Attin T (2007):

Susceptibility of acid-softened enamel to mechanical wear – ultrasonication versus toothbrushing abrasion.

Caries Res 41: 56-60

Wiktorsson AM, Zimmermann M, Angmar-Mansson B (1997):

Erosive tooth wear: prevalence and severity in Swedish wine tasters.

Eur J Oral Sci 105: 544-550

Young A, Amaechi BT, Dugmore C, Holbrook P, Nunn J, Schiffner U, Lussi A, Ganss C (2008):

Current erosion indices-flawed or valid? Summary

Clin Oral Investig 12(Suppl 1): 59-63

Zipkin I, McClure FJ (1949):

Salivary citrate and dental erosion.

J Dent Res 28: 613-626

Zero DT (1996):

Etiology of dental erosion--extrinsic factors.

Eur J Oral Sci 104: 162-77